

Docket No.: 61352-039

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of

Ichiro YAMASHITA

Serial No.:

Filed: July 14, 2003

For: FINE PARTICLE FILM AND PRODUCING METHOD OF THE SAME

:
:
:
:
: Group Art Unit:
:
: Examiner:
:

**CLAIM OF PRIORITY AND
TRANSMITTAL OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT**

Mail Stop CPD
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

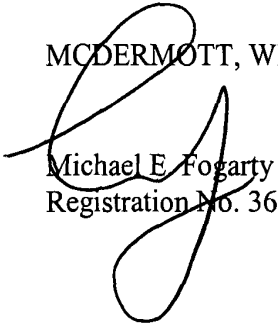
In accordance with the provisions of 35 U.S.C. 119, Applicant hereby claims the priority of:

Japanese Patent Application No. 2001-343526, filed November 8, 2001

cited in the Declaration of the present application. A certified copy is submitted herewith.

Respectfully submitted,

MCDERMOTT, WILL & EMERY


Michael E. Fogarty
Registration No. 36,139

600 13th Street, N.W.
Washington, DC 20005-3096
(202) 756-8000 MEF:mcw
Facsimile: (202) 756-8087
Date: July 14, 2003

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

61352-039

July 14, 2003

I. YAMASHITA.

McDermott, Will & Emery

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2001年11月 8日

出願番号

Application Number:

特願2001-343526

[ST.10/C]:

[JP2001-343526]

出願人

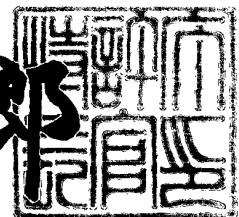
Applicant(s):

松下電器産業株式会社

2003年 4月 4日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3023873

【書類名】 特許願

【整理番号】 2033830152

【提出日】 平成13年11月 8日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 H01L 29/06

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

【氏名】 山下 一郎

【特許出願人】

【識別番号】 000005821

【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100077931

【弁理士】

【氏名又は名称】 前田 弘

【選任した代理人】

【識別番号】 100094134

【弁理士】

【氏名又は名称】 小山 廣毅

【選任した代理人】

【識別番号】 100110939

【弁理士】

【氏名又は名称】 竹内 宏

【選任した代理人】

【識別番号】 100110940

【弁理士】

【氏名又は名称】 嶋田 高久

【選任した代理人】

【識別番号】 100113262

【弁理士】

【氏名又は名称】 竹内 祐二

【選任した代理人】

【識別番号】 100115059

【弁理士】

【氏名又は名称】 今江 克実

【選任した代理人】

【識別番号】 100115510

【弁理士】

【氏名又は名称】 手島 勝

【選任した代理人】

【識別番号】 100115691

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤田 篤史

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 014409

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0006010

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 微粒子膜の作製方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 少なくとも 3 つの第 1 結合部と少なくとも 1 つの第 2 結合部とを有し、上記第 1 結合部同士が相互作用する微粒子を用意する工程（a）と、
上記第 2 結合部を結合させるように表面が処理された基材を用意する工程（b）と、

上記基材の表面を、上記微粒子を含む液体に接触させることにより、上記基材の表面上に上記微粒子を整列させる工程（c）と、
を含む微粒子膜の作製方法。

【請求項 2】 請求項 1 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記基材は、固体基板であることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 3】 請求項 2 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記固体基板の表面は、上記第 2 結合部を静電相互作用によって結合させるように処理されていることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 4】 請求項 3 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記固体基板の表面は、単分子膜によって被覆されていることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 5】 請求項 4 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記固体基板は、上記単分子膜に接触する部分がシリコンで形成されており、
上記単分子膜は、SAM 膜であることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 6】 請求項 1 から 5 のいずれか 1 つに記載の微粒子膜の作製方法において、

上記第 1 結合部は、静電相互作用、親水相互作用、疎水相互作用および形状の補完性のうち、少なくともいずれか 1 つの作用によって互いに結合することを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 7】 請求項 1 から 6 のいずれかに記載の微粒子膜の作製方法において、

上記微粒子は、タンパク質であることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 8】 請求項 7 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記タンパク質は、無機物を内包することを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 9】 請求項 7 または 8 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記タンパク質は、3 回対称軸を有し、
上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、塩基性アミノ酸に置換されて
おり、

上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによ
って、上記 3 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定されることを特
徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 10】 請求項 7 または 8 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記タンパク質は、3 回対称軸を有し、
上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、酸性アミノ酸に置換されてお
り、

上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによ
って、上記 3 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定されることを特
徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 11】 請求項 9 または 10 に記載の微粒子膜の作製方法において
、
上記工程 (c) では、上記液体の pH が 3 以上 11 以下であることを特徴とす
る微粒子膜の作製方法。

【請求項 12】 請求項 9 から 11 のいずれか 1 つに記載の微粒子膜の作製
方法において、

上記タンパク質は、アポフェリチン、D p s タンパク質、または CCMV タン
パク質のいずれかであることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 13】 請求項 7 または 8 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記タンパク質は、4 回対称軸を有し、
上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、塩基性アミノ酸に置換されて
おり、

上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによ

って、上記 4 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定されることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 1 4】 請求項 7 または 8 に記載の微粒子膜の作製方法において、
上記タンパク質は、4 回対称軸を有し、
上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、酸性アミノ酸に置換されており、

上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによって、上記 4 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定されることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 1 5】 請求項 1 3 または 1 4 に記載の微粒子膜の作製方法において、

上記工程 (c) では、上記液体の pH が 3 以上 1 1 以下であることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【請求項 1 6】 請求項 1 3 から 1 5 のいずれか 1 つに記載の微粒子膜の作製方法において、

上記タンパク質は、アポフェリチンまたは CCMV タンパク質であることを特徴とする微粒子膜の作製方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、微粒子膜の作製方法に関し、特に大きさが数十ナノメートル程度の微粒子を高精度で規則的に配置する技術に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

微粒子は、その体積に対する表面積の比が大きく、体積に対する表面積の比が比較的小さい材料とは一般に異なる挙動を示す。例えば、酸化チタンおよび酸化亜鉛等の無機材料の微粒子は、紫外線除去作用、抗菌作用、触媒作用等を有する。

【0 0 0 3】

また、無機材料の微粒子のうち、ナノメートルサイズの直径を有する微粒子（超微粒子）には、量子効果が期待されている。このため、微粒子の工業的利用が注目されている。特に、直径がナノメートルサイズである超微粒子にあっては、量子効果を利用した素子の工業的な製造技術の開発が急務とされている。

【0004】

直径が約10～20nmであるタンパク質微粒子は、バイオセンサー等への利用に関して注目されている。特に、種々のタンパク質微粒子には、無機材料を内包できる微粒子が存在する。このようなタンパク質微粒子は、上述した無機材料の微粒子と、タンパク質微粒子との両方の性質を兼ね備える。

【0005】

上述した微粒子は、通常、コロイド溶液の形態で流通している。しかし、コロイド溶液のままでは微粒子の機能を有効利用する上で不利である。従って、原料として上記のコロイド溶液を利用した、微粒子の機能を工業的に有効利用できる技術が模索されている。

【0006】

従来から、タンパク質微粒子からなる2次元結晶膜は、電子顕微鏡によるタンパク質の結晶構造解析に利用されている。このとき、タンパク質微粒子からなる2次元結晶膜は、トラフにタンパク質粒子のコロイド溶液を満たし、このコロイド溶液の気液界面でタンパク質微粒子を濃縮することによって作製されている。この方法では、2次元結晶膜が気液界面に形成されているので、振動によって2次元結晶膜が壊れやすい。

【0007】

そこで現在、工業的に有効利用できる技術として、基板上に微粒子を配置する方法が最も有効と考えられている。従って、微粒子が高密度で規則的に配置された理想的な微粒子膜を基板上に簡単に形成する技術の確立が望まれている。

【0008】

これまでに、タンパク質微粒子を基板上に配置する技術として、吉村らにより開発された転写法（Adv. Biophys.、Vol. 34、p99～107、（1997））を、以下、図12を参照しながら説明する。

【 0 0 0 9 】

まず、図 1 2 (a) に示すステップで、濃度 2 % のシュクロース溶液 2 3 に、タンパク質微粒子 4 5 を分散した液体 2 4 を、シリンジ 2 5 を用いて注入する。

【 0 0 1 0 】

次に、図 1 2 (b) に示すステップで、液体 2 4 は、シュクロース溶液 2 3 上に浮上する。

【 0 0 1 1 】

次に、図 1 2 (c) に示すステップで、最初に気液界面に到達した液体 2 4 は、タンパク質微粒子のアモルファス膜 2 6 を形成し、後から到達したタンパク質微粒子 4 5 は、アモルファス膜 2 6 の下に付着していく。

【 0 0 1 2 】

次に、図 1 2 (d) に示すステップで、アモルファス膜 2 6 の下に、タンパク質微粒子 4 5 の 2 次元結晶膜 2 7 を形成する。次いで、図 1 2 (d) に示すように、アモルファス膜 2 6 とタンパク質微粒子 4 5 の 2 次元結晶膜 2 7 とからなる膜 2 8 の上に、基板 2 1 (シリコンウェハ、カーボングリッド、ガラス基板等) を載置することによって、膜 2 8 が基板 2 1 の表面に転写される。

【 0 0 1 3 】

【 発明が解決しようとする課題 】

しかしながら、上記の従来の方法では、図 1 2 (d) に示すステップで、膜 2 8 の破断が発生する可能性が高く、また転写の際にも 2 次元結晶膜 2 7 の一部のタンパク質微粒子が脱落する可能性が高い。このため、大面積の 2 次元結晶膜を欠陥なく基板に転写することが難しいという不具合がある。

【 0 0 1 4 】

そこで上述の吉村らの方法において、p H 7 付近でタンパク質がマイナス電荷を持つような場合に、基板の表面を p H 7 付近でプラス電荷が帯電するようにアミノプロピルメトキシシランで処理することによって、タンパク質微粒子の基板表面への転写を促進する方法が示されている。また、タンパク質微粒子同士は互いに結合しやすいことも明らかにされている。

【 0 0 1 5 】

しかし、上記方法で得られた 2 次元結晶膜におけるタンパク質微粒子の基板への転写の状況を SEM や AFM で観察すると、タンパク質微粒子の対称軸の方向はランダムになっている。これは、上記方法では、タンパク質微粒子の基板に接触する部位がランダムになっているからである。従って、上記方法では、タンパク質微粒子が比較的凝集した構造を形成することがあっても、タンパク質微粒子の対称軸の方向が揃っており、タンパク質微粒子が高密度、且つ、高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜を得ることが困難である。つまり、2 次元結晶膜の結晶軸の方向制御が非常に難しい。

【 0 0 1 6 】

本発明は、上記不具合を解決するためになされたものであり、ナノメートルサイズの直径を有する微粒子が、高密度、且つ、高精度で規則的に配置された微粒子膜を提供することを目的とする。

【 0 0 1 7 】

【課題を解決するための手段】

本発明の微粒子膜の作製方法は、少なくとも 3 つの第 1 結合部と少なくとも 1 つの第 2 結合部とを有し、上記第 1 結合部同士が相互作用する微粒子を用意する工程（a）と、上記第 2 結合部を結合させるように表面が処理された基材を用意する工程（b）と、上記基材の表面を、上記微粒子を含む液体に接触させることにより、上記基材の表面上に上記微粒子を整列させる工程（c）とを含む。

【 0 0 1 8 】

本発明の微粒子膜の作製方法によれば、微粒子は、第 2 結合部を基材の表面に向けた状態で固定される。さらに第 1 結合部における相互作用によって、微粒子同士の相対的な位置関係が固定される。従って、微粒子は基板の表面上に規則的に配置される。つまり、高密度、且つ、高精度で規則的に配置された微粒子膜が得られる。

【 0 0 1 9 】

上記基材は、固体基板であってもよい。

【 0 0 2 0 】

上記固体基板の表面は、上記第 2 結合部を静電相互作用によって結合させるように処理されていてもよい。

【 0 0 2 1 】

上記固体基板の表面は、単分子膜によって被覆されていてもよい。

【 0 0 2 2 】

このことによって、固体基板の表面と微粒子との距離を正確に保ちながら整列させることができる。

【 0 0 2 3 】

上記固体基板は、上記単分子膜に接触する部分がシリコンで形成されており、上記単分子膜は、SAM膜であってもよい。

【 0 0 2 4 】

上記第 1 結合部は、静電相互作用、親水相互作用、疎水相互作用および形状の補完性のうち、少なくともいずれか 1 つの作用によって互いに結合する構成としてもよい。

【 0 0 2 5 】

上記微粒子は、タンパク質であってもよい。

【 0 0 2 6 】

上記タンパク質は、無機物を内包するものであってもよい。

【 0 0 2 7 】

上記タンパク質は、3 回対称軸を有し、上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、塩基性アミノ酸に置換されており、上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによって、上記 3 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定されることが好ましい。

【 0 0 2 8 】

塩基性アミノ酸は、プラスチャージに帯電しやすい。このため、基材の表面がマイナスチャージに帯電しているときは、タンパク質の 3 回対称軸の基材の表面に対する角度がほぼ固定される。このことによって、タンパク質の 3 回対称性を反映した非常に対称性の高い微粒子膜が得られる。

【 0 0 2 9 】

上記タンパク質は、3 回対称軸を有し、上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、酸性アミノ酸に置換されており、上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによって、上記 3 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定される構成としてもよい。

【 0 0 3 0 】

酸性アミノ酸は、マイナスチャージに帯電しやすい。このため、基材の表面がプラスチャージに帯電しているときは、タンパク質の 3 回対称軸の基材の表面に対する角度がほぼ固定される。このことによって、タンパク質の 3 回対称性を反映した非常に対称性の高い微粒子膜が得られる。

【 0 0 3 1 】

上記工程 (c) では、上記液体の p H が 3 以上 1 1 以下であることが好ましい。

【 0 0 3 2 】

上記タンパク質は、アポフェリチン、D p s タンパク質、または C C M V タンパク質のいずれかであってもよい。

【 0 0 3 3 】

上記タンパク質は、4 回対称軸を有し、上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、塩基性アミノ酸に置換されたものであり、上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによって、上記 4 回対称軸の上記基材の表面に対する角度がほぼ固定される構成としてもよい。

【 0 0 3 4 】

塩基性アミノ酸は、プラスチャージに帯電しやすい。このため、基材の表面がマイナスチャージに帯電しているときは、タンパク質の 4 回対称軸の基材の表面に対する角度がほぼ固定される。このことによって、タンパク質の 4 回対称性を反映した非常に対称性の高い微粒子膜が得られる。

【 0 0 3 5 】

上記タンパク質は、4 回対称軸を有し、上記第 2 結合部の少なくとも 1 つのアミノ酸は、酸性アミノ酸に置換されており、上記工程 (c) では、上記第 2 結合部が上記基材の表面に結合されることによって、上記 4 回対称軸の上記基材の表

面に対する角度がほぼ固定される構成としてもよい。

【0036】

酸性アミノ酸は、マイナスチャージに帯電しやすい。このため、基材の表面がプラスチャージに帯電しているときは、タンパク質の4回対称軸の基材の表面に対する角度がほぼ固定される。このことによって、タンパク質の4回対称性を反映した非常に対称性の高い微粒子膜が得られる。

【0037】

【発明の実施の形態】

上記の従来の方法で得られる2次元膜では、タンパク質微粒子は、その対称軸がランダムな方向を向いた状態で配置されており、周期的な構造が見られない。この原因は、2次元結晶膜内でタンパク質微粒子同士の相互作用に特異性がないからであると考えられる。このため、タンパク質微粒子は、その表面エネルギーを最小化するために凝集し、タンパク質微粒子の対称軸の方向がランダムとなると考えられる。

【0038】

そこで本発明者は、タンパク質微粒子を、その対称軸が基板に対して特定の方向を向いた状態で基板上に配置することによって、タンパク質微粒子の対称性を利用して周期的な構造を有する2次元結晶膜が作製可能であると考えた。つまり、タンパク質微粒子が基板上に配置される際に、全てのタンパク質微粒子の方向を1つの方向に向け、タンパク質微粒子の自由回転を抑制し、タンパク質微粒子間の特異的相互作用によって、タンパク質微粒子が高密度且つ高精度で規則的に配置された2次元結晶膜が得られると考えた。

【0039】

以下に説明する本発明の実施形態は、上記考察に基づくものである。以下、図面を参照しながら本発明の実施の形態を説明する。なお、簡単のために、各実施形態に共通する構成要素は同一の参照符号で示す。また、本明細書中における「結合」との記載は、特に指示のない限り「互いに引きつけ合うことによる固定」を意味する。

【0040】

(実施形態 1)

本実施形態では、基板の表面上に微粒子が高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜を作製する方法を説明する。

【 0 0 4 1 】

まず、本実施形態の 2 次元結晶膜の作製方法の概略を、図 1 を参照しながら以下に説明する。

【 0 0 4 2 】

最初に、図 1 (a) に示す工程で、基板 1 1 を用意し、その表面をマイナスチャージを持つように処理する。

【 0 0 4 3 】

次に、図 1 (b) に示す工程で、一部がプラスチャージを帯電したアポフェリチン微粒子 1 5 を分散した液体 1 6 を用意し、基板 1 1 を液体 1 6 中に浸漬する。このことによって、プラスチャージとマイナスチャージとが互いに引きつけ合い、マイナスチャージを持つように処理された基板 1 1 の表面にアポフェリチン微粒子 1 5 が結合する。

【 0 0 4 4 】

次に、図 1 (c) に示す工程で、液体 1 6 中から基板 1 1 を取り出す。

【 0 0 4 5 】

以上の工程を経て、基板 1 1 の表面上に形成されたアポフェリチン微粒子 1 5 の 2 次元結晶膜が得られる。

【 0 0 4 6 】

次に、各工程について詳細に説明する。

【 0 0 4 7 】

本実施形態では、図 1 (a) に示す工程において、基板 1 1 の表面をマイナスチャージに帯電させるために、基板 1 1 上にカルボキシエチルトリメトキシシランの SAM 膜 (self assembly monolayer film) を、横川らの手法 (平成 1 1 年度新エネルギー・産業技術総合開発機構新規産業創造型提案公募事業研究成果報告書「新規なディスプレイへの応用を目指したカメレオン型発色システムの創世」、平成 1 2 年 3 月) により形成する。

【 0 0 4 8 】

本実施形態では、図 1 (b) に示す工程において、上記図 1 (a) に示す工程で得られた基板 1 1 を、アポフェリチン微粒子 1 5 を分散した液体 1 6 に浸漬する。本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 は、馬の脾臓や肝臓等の臓器から抽出されたフェリチンから得られたものである。アポフェリチン微粒子 1 5 は、非常に対称性の高い構造を有するタンパク質であり、4 回対称軸 S_4 、3 回対称軸 S_3 および 2 回対称軸 S_2 を有する。ここでは、容易に理解できるように、アポフェリチン微粒子 1 5 をほぼ立方体であると見なして説明する。

【 0 0 4 9 】

図 2 は、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 を模式的に表す図である。アポフェリチン 1 5 を立方体であると見なすと、図 2 に示すように、4 回対称軸 S_4 は立方体の 6 つの面のそれぞれの中心を、3 回対称軸 S_3 は立方体の各頂点を、2 回対称軸 S_2 は立方体の各辺の中点を通る。なお、本図では、4 回対称軸 S_4 、3 回対称軸 S_3 および 2 回対称軸 S_2 を代表的に 1 本ずつ示している。

【 0 0 5 0 】

アポフェリチン微粒子 1 5 は、2 回対称軸 S_2 付近の各部位 R 2 において、別のアポフェリチン微粒子 1 5 と 2 価の陽イオンを介して 2 対の塩橋を形成することができる。さらに、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 は、3 回対称軸 S_3 付近の各部位 R 3 が、中性条件下ではプラスチャージに帯電するように遺伝子工学的に改変されている。本実施形態のアポフェリチン微粒子 1 5 における上述の塩橋および遺伝子工学的改変については後に詳しく述べる。

【 0 0 5 1 】

図 3 (a) および図 3 (b) は、図 1 (b) に示す工程をさらに詳細に説明する断面図および上面図である。上述のように準備された液体 1 6 と基板 1 1 とを用いることによって、アポフェリチン微粒子 1 5 は、3 回対称軸 S_3 付近の部位 R 3 のいずれか 1 つで基板 1 1 の表面に静電相互作用により結合する。このとき、アポフェリチン微粒子 1 5 は、3 回対称軸 S_3 を基板 1 1 表面に対してほぼ垂直に向けた状態で、基板 1 1 の表面上にまばらに存在する。さらに、アポフェリチン微粒子 1 5 の基板 1 1 の表面への結合が進行すると、図 3 (a) に示すよう

に、隣接するアポフェリチン微粒子 1 5 は、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成する。従って、3 回対称軸 S_3 を基板 1 1 表面に対してほぼ垂直に向けた状態で、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成しながら基板 1 1 の表面に結合する。つまり、図 3 (b) に示すように、全てのアポフェリチン微粒子 1 5 が基板 1 1 の表面上に最密となるように整列する。

【 0 0 5 2 】

上記の現象は、基板 1 1 の表面上で連続して起こり、図 3 (b) に示すように、上面からは見かけ上 6 回対称であり、実際には、3 回対称の 2 次元結晶膜が形成される。なお、このとき、アポフェリチン微粒子 1 5 は全体としてはマイナスチャージに帯電しているので、堆積された 1 層目のアポフェリチン微粒子 1 5 の上に、さらに積層するようにアポフェリチン微粒子 1 5 が結合することはない。従って、アポフェリチンは必ず単層膜を形成する。

【 0 0 5 3 】

図 4 は、本実施形態で得られる 2 次元結晶膜の電子顕微鏡写真である。図 3 (b) に模式的に示す 2 次元結晶膜は全く隙間のない膜であるが、実際のアポフェリチン微粒子 1 5 はほぼ球状であるので、図 4 に示すように隙間が存在する。

【 0 0 5 4 】

本実施形態によれば、図 4 に示すように、アポフェリチン微粒子 1 5 が高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜が得られる。

【 0 0 5 5 】

特に、本実施形態では、基板 1 1 を液体 1 6 中に浸漬することによって、アポフェリチン微粒子 1 5 が高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜が容易に得られる。つまり、本実施形態の方法において、基板 1 1 と液体 1 6 とを接触させる際に高い精度が要求される操作は全くない。従って、量産化に非常に適している。

【 0 0 5 6 】

なお、本実施形態では、図 1 (b) に示す工程において、基板 1 1 を液体 1 6 中に浸漬したが、上記吉村らの方法に示すように、基板 1 1 の表面に 2 次元結晶膜を転写する方法を用いることも可能である。つまり、液体 1 6 と基板 1 1 の表

面とが接触する方法であれば、いかなる方法を用いてもよい。

【 0 0 5 7 】

また、本実施形態では、非常に対称性の高いアポフェリチン微粒子 1 5 を用いたが、微粒子に対して高い対称性が必ずしも必要というわけではない。基板 1 1 の表面に結合する 1 つ以上の基板結合部位と、相互結合に結合可能な 3 つ以上の相互結合部位とを備える微粒子を用いることによって、高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜を得ることができる。これは、対称性がほとんどない微粒子であっても、2 次元結晶膜内でタンパク質微粒子同士に特異的な相互作用があれば、その表面エネルギーを最小化するために基板 1 1 の表面上に規則的に整列し、繰り返し構造を形成するからである。従って、本実施形態ではアポフェリチン微粒子 1 5 を用いたが、これに限定されない。

【 0 0 5 8 】

勿論、本実施形態で用いるアポフェリチン微粒子 1 5 のように、非常に高い対称性を有する微粒子を用いることがより好ましい。これは、高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜をさらに容易に得ることができ、また、得られる 2 次元結晶膜の対称性も非常に高くなるからである。アポフェリチン微粒子 1 5 に代わる非常に高い対称性を有する微粒子としては、例えば D p s タンパク質、CCMV タンパク質などのようなほぼ球状のタンパク質が挙げられる。これらのタンパク質を、基板 1 1 の表面に結合する 1 つ以上の基板結合部位と、相互に結合可能な 3 つ以上の相互結合部位とを備えるように遺伝子工学的に改変することによって、アポフェリチン微粒子 1 5 の代わりに本実施形態で全く同様に用いることができる。

【 0 0 5 9 】

なお、微粒子の相互結合部位は、塩橋等の静電相互作用に限られず、親水相互作用、疎水相互作用および形状の補完性のうち、少なくともいずれか 1 つの作用によって互いに結合する部位であればよい。

【 0 0 6 0 】

以下、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 を詳細に説明する。

【 0 0 6 1 】

本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 15 は、分子量 2 万程度のサブユニットの 24 量体であり、24 量体全体の外径が 12 nm 程度の球状のタンパク質である。通常、生体内ではフェリチンとして存在する。フェリチンは、アポフェリチン微粒子と、アポフェリチン微粒子の中に内包される 3000 分子程度の酸化鉄 (Fe_2O_3) との複合体である。アポフェリチン微粒子は、金属粒子、金属酸化物等の様々な無機材料粒子を内包する性質があり、例えば、金、酸化鉄、水酸化コバルト等の粒子を内包することができる。従って、上述の 2 次元結晶膜を作製するアポフェリチン微粒子 15 として、無機材料粒子を内包するものを用いることも可能である。

【0062】

図 5 は、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子の構造を表す図である。本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 15 は、図 5 に示すように、無機材料粒子を保持することが可能な直径 6 nm 程度の中空コア 12 を有し、中空コア 12 の周囲をアポフェリチンタンパク質分子（サブユニット）14 で囲む構造を有する。

【0063】

アポフェリチン微粒子 15 は、上記方法の説明でも述べたように、非常に対称性の高い構造を有している。図 5～7 は、アポフェリチン微粒子 15 が備える異なる対称軸の方向から見た図をそれぞれ表す。図 5～7 に示すように、アポフェリチン微粒子 15 は、4 回対称軸 S_4 、3 回対称軸 S_3 および 2 回対称軸 S_2 を有している。

【0064】

アポフェリチン微粒子 15 は、全体としてはマイナスチャージが優位に帯電しているので、中性条件下ではアポフェリチン微粒子 15 同士は、互いに反発し合う。このため、アポフェリチン微粒子 15 は凝集体を作らずに液体 16 中に分散する。

【0065】

しかし、アポフェリチン微粒子 15 は、図 7 に示すように、2 回対称軸 S_2 の付近の表面にグルタミン酸残基が現れている部位（グルタミン酸表出部位）17

を備えている。このため、2つのアポフェリチン微粒子15は、それぞれのグルタミン酸表出部位17の間にイオン（例えば、カドミウム等）を挟んで互いに対向するような、静電相互作用による結合（塩橋）を形成することができる。なお、本明細書中では、上記の静電相互作用による結合を「塩橋」と称する。

【0066】

図8は、2つのアポフェリチン微粒子15の間に形成された塩橋を模式的に示す図である。グルタミン酸表出部位17は、図7に示すように、2回対称軸 S_2 付近の部位R2の表面に位置する1対のグルタミン酸残基17aを有する。グルタミン酸残基17aは、各サブユニット14に1つずつ存在する。塩橋を形成する際には、図8に示すように、1対のグルタミン酸残基17aの各々と、対向する1対のグルタミン酸残基17aの各々の間に2価の陽イオン（ここではカドミウムで示す）が挟まれる。従って、2つのアポフェリチン微粒子15の間に塩橋が形成されると、2つのアポフェリチン微粒子15のそれぞれの自由回転が互いに阻害される。また、図3（a）に示すように、2つのアポフェリチン微粒子15は、同じ方向を向いて互いの位置関係を固定する。

【0067】

なお、塩橋を形成するためには、液体16中に2価の陽イオン（例えばカドミウム）を添加しておく必要があり、5～10mMの範囲内で添加しておくことが好ましい。

【0068】

次に、アポフェリチン微粒子15に施されている遺伝子工学的改変について説明する。アポフェリチン微粒子15をコードするDNAの塩基配列を配列番号1に、アポフェリチン微粒子15のアミノ酸配列を配列番号2にそれぞれ示す。なお、アポフェリチン微粒子15は、24個の同一のサブユニット14から構成されているので、本明細書中では「アポフェリチン微粒子15をコードするDNAの塩基配列」および「アポフェリチン微粒子15のアミノ酸配列」は、それぞれサブユニット14をコードするDNAの塩基配列、およびサブユニット14のアミノ酸配列を意味する。

【0069】

ウマ肝臓由来の天然型アポフェリチン微粒子のアミノ酸配列およびそれをコードするDNAの塩基配列は既知であり、立体構造についても解明されている。特に、天然型アポフェリチン微粒子は、3回対称軸 S_3 に沿って内部の中空コアに通じるチャンネルを有する。チャンネルの周りには、中性条件下でマイナスチャージを有するアミノ酸（酸性アミノ酸）が存在している。

【0070】

天然型アポフェリチン微粒子のサブユニットは、175残基のアミノ酸残基から構成され、そのうち、酸性アミノ酸は、3回対称軸 S_3 付近の部位R3に多く位置する。なお、天然型アポフェリチン微粒子の1～8番目のアミノ酸残基は、生体内においてプロセッシングを受けて欠失する。このため、本実施形態のアポフェリチン微粒子15のDNAの塩基配列（配列番号1）では25番目の塩基を1番目として、アミノ酸配列（配列番号2）では9番目のチロシンを1番目として記載している。

【0071】

本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子15は、配列番号1に示すDNAの塩基配列に基づいて公知の遺伝子組み換え技術およびタンパク質の発現方法を用いることによって作製される。アポフェリチン微粒子15は、3回対称軸 S_3 付近の部位R3に位置するアミノ酸が中性条件下でプラス電荷を持つアミノ酸（塩基性アミノ酸）に置換されている。具体的には、配列番号1および2に示すように、アポフェリチン微粒子15のアミノ酸配列の112番目および113番目のリジンは、それぞれアラニンおよびグルタミンから置換されたものである。このため、3回対称軸 S_3 付近の部位R3の表面がプラスチャージに強く帯電する。従って、アポフェリチン微粒子15は、3回対称軸 S_3 付近の部位R3においてマイナスチャージに帯電した基板11の表面に静電相互作用によって結合する。

【0072】

一方、アポフェリチン微粒子15の3回対称軸 S_3 付近の部位R3以外の表面は、プラスチャージとマイナスチャージとが混在しており、全体としてはマイナスチャージが優位となっている。このため、上記図1（b）に示す工程において

、アポフェリチン微粒子 1 5 の 3 回対称軸 S_3 付近の部位 R 3 以外の表面と、マイナスチャージに帯電した基板 1 1 の表面との間に斥力が働く。従って、アポフェリチン微粒子 1 5 の 3 回対称軸 S_3 は、基板 1 1 の表面に対してほぼ垂直に固定される。

【 0 0 7 3 】

なお、上記図 1 (b) に示す工程において、液体 1 6 の p H を、液体 1 6 中において基板 1 1 の表面がマイナスチャージを帯電し、アポフェリチン微粒子 1 5 の部位 R 3 がマイナスチャージに帯電する p H 3 以上 1 1 以下の範囲内に調整することが好ましく、p H 5 以上 1 0 以下の範囲内に調整することが特に好ましい。

【 0 0 7 4 】

また、上記図 1 (b) に示す工程において、2 次元結晶膜が形成され始める核が多数生じないように、アポフェリチン微粒子 1 5 が十分希薄な液体 1 6 を用意することが好ましい。実際には、液体 1 6 におけるアポフェリチン微粒子 1 5 の濃度は、 $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であることが好ましく、さらには $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であることが好ましい。

【 0 0 7 5 】

あるいは、液体 1 6 を用いる代わりに、アポフェリチン微粒子 1 5 を全く含まない分散媒を用意して基板 1 1 を浸漬し、続いてこの分散媒にアポフェリチン微粒子 1 5 を高濃度で含むコロイド溶液を極めて緩やかに添加する（例えば 1 0 時間かけてアポフェリチン微粒子 1 5 の最終濃度を $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ にする）方法を用いてもよい。

【 0 0 7 6 】

本実施形態では、基板 1 1 の表面上に 2 次元結晶膜を形成したが、これに限られない。例えば、液体および液晶等の表面上にも 2 次元結晶膜を形成することが可能である。

【 0 0 7 7 】

また、本実施形態では、基板 1 1 の表面が、アポフェリチン微粒子 1 5 を静電相互作用によって結合するように処理されている。しかし、静電相互作用に限ら

れず、他の相互作用（例えば、親水相互作用、疎水相互作用および形状の補完性）を利用する構成としてもよい。

【 0 0 7 8 】

さらにまた、アポフェリチン微粒子 1 5 の代わりにタンパク質微粒子を用いる場合、基板 1 1 の表面に結合させる部位のアミノ酸と、基板 1 1 の表面のチャージとの組み合わせは、塩基性アミノ酸とマイナスチャージ、あるいは、酸性アミノ酸とプラスチャージとなるように選択することが好ましい。これらの組み合わせでは、上記 pH 条件において、静電相互作用によってタンパク質微粒子と基板 1 1 の表面とが容易に結合する。

【 0 0 7 9 】

使用するタンパク質微粒子の基板 1 1 に結合させる部位に、基板 1 1 の表面のチャージと反発するアミノ酸が含まれている場合には、静電相互作用によって結合するように遺伝子工学的に塩基性アミノ酸と酸性アミノ酸とを置換したタンパク質微粒子を代わりに用いることが好ましい。

【 0 0 8 0 】

本実施形態では、基板 1 1 の表面上に SAM 膜を形成した用いている。SAM 膜は、基板 1 1 の表面上に形成された単分子膜であり、アポフェリチン微粒子 1 5 との距離を高い精度で制御できる。なお、基板 1 1 の表面は、SAM 膜以外の単分子膜によって被覆されていてもよい。また、リン脂質からなる脂質二重膜（LB 膜）を基板 1 1 の表面上に形成してもよい。

【 0 0 8 1 】

（実施形態 2）

本実施形態では、アポフェリチン微粒子 1 5 の 4 回対称軸 S_4 付近の部位を基板 1 1 の表面に結合させることによって、基板の表面上に微粒子が高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜を作製する方法を説明する。なお本実施形態は、上記実施形態 1 とほぼ同じ構成であり、本実施形態の 2 次元結晶膜の作製方法の概略は、図 1 に示す通りである。但し、アポフェリチン微粒子 1 5 のアミノ酸配列が異なる。

【 0 0 8 2 】

本実施形態のアポフェリチン微粒子 1 5 は、2 回対称軸 S_2 付近の各部位 R 2 において、別のアポフェリチン微粒子と 2 価の陽イオンを介して 2 対の塩橋を形成することができる。さらに、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 は、4 回対称軸 S_4 付近の各部位 R 4 が、中性条件下ではプラスチャージに帯電するように遺伝子工学的に改変されている。

【 0 0 8 3 】

具体的には、本実施形態のアポフェリチン微粒子 1 5 は、配列番号 3 に示す DNA の塩基配列に基づいて公知の遺伝子組み換え技術およびタンパク質の発現方法を用いることによって作製される。アポフェリチン微粒子 1 5 は、4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 に位置するアミノ酸が中性条件下でプラス電荷を持つアミノ酸（塩基性アミノ酸）に置換されている。具体的には、配列番号 3 および 4 に示すように、アポフェリチン微粒子 1 5 のアミノ酸配列の 1 4 9 番目および 1 5 1 番目のリジンは、それぞれグリシンおよびグルタミンから置換されたものである。このため、4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 の表面がプラスチャージに強く帯電する。従って、アポフェリチン微粒子 1 5 は、4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 においてマイナスチャージに帯電した基板 1 1 の表面に結合する。

【 0 0 8 4 】

一方、アポフェリチン微粒子 1 5 の 4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 以外の表面は、プラスチャージとマイナスチャージとが混在しており、全体としてはマイナスチャージが優位となっている。このため、アポフェリチン微粒子 1 5 の 4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 以外の表面と、マイナスチャージに帯電した基板 1 1 の表面との間に斥力が働く。従って、アポフェリチン微粒子 1 5 の 4 回対称軸 S_4 は、基板 1 1 の表面に対してほぼ垂直に固定される。

【 0 0 8 5 】

図 9 (a) および図 9 (b) は、図 1 (b) に示す工程をさらに詳細に説明する断面図および上面図である。図 1 (b) に示す工程において、上述のように準備された液体 1 6 と基板 1 1 とを用いることによって、4 回対称軸 S_4 付近の部位 R 4 のいずれか 1 つで基板 1 1 と静電相互作用により結合する。このとき、アポフェリチン微粒子 1 5 は、図 9 (a) に示すように、4 回対称軸 S_4 を基板 1

1 表面に対してほぼ垂直に向けた状態で、基板 1 1 の表面上にまばらに存在する。さらに、アポフェリチン微粒子 1 5 の結合が進行すると、図 9 (b) に示すように、隣接するアポフェリチン微粒子 1 5 は、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成する。従って、4 回対称軸 S_4 を基板 1 1 表面に対してほぼ垂直に向けた状態で、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成しながら基板 1 1 の表面に結合する。この現象は、基板 1 1 の表面上で連続して起こり、図 9 (b) に示すように、4 回対称の 2 次元結晶膜が形成される。

【 0 0 8 6 】

図 1 0 は、本実施形態で得られる 2 次元結晶膜の電子顕微鏡写真である。図 9 (b) に模式的に示す 2 次元結晶膜は、アポフェリチン微粒子 1 5 が市松模様状 (チェッカー状) に整列した膜であるが、実際のアポフェリチン微粒子 1 5 はほぼ球状であるので、図 1 0 に示すように各アポフェリチン微粒子 1 5 の間の隙間が小さくなっている。

【 0 0 8 7 】

なお、これまでに 3 回対称および 4 回対称の 2 次元結晶膜の作製方法を示したが、本発明はこれらに限定されない。2 回対称軸 S_2 付近の部位 R 2 を基板 1 1 の表面に結合し、さらに 3 つ以上の相互結合部位を備えるアポフェリチン微粒子を準備すれば、図 1 に示す方法によって 2 回対称の 2 次元結晶膜を作製することも可能である。

【 0 0 8 8 】

(実施形態 3)

本実施形態では、上記実施形態 1 および 2 で作製された 2 次元結晶膜の利用方法を説明する。

【 0 0 8 9 】

まず、上記実施形態 1 および 2 で作製された 2 次元結晶膜の利用例として、E P - R O M、 E^2 P - R O M などの浮遊ゲートが挙げられる。図 1 1 (a) および (b) は、上記実施形態 1 に示した方法で作製された 2 次元結晶膜を浮遊ゲートとして用いた E P - R O M の上面図および断面図である。

【 0 0 9 0 】

上記実施形態 1 で作製された 2 次元結晶膜では、アポフェリチン微粒子 1 5 に内包される金属粒子 1 2 a が、互いに絶縁された状態で、高密度且つ高精度で規則的に配置されている。このため、絶縁膜上に配置される金属粒子数を、2 次元結晶膜 1 0 0 のパターンニング等により精密にコントロールすることが可能になる。金属粒子数を精密にコントロールすることによって、浮遊ゲートが蓄積する電荷量を精密にコントロールできる。従って、書き込み前後での各メモリセルのしきい値電圧の変化分 V_{th} のバラツキを抑制することができる。書き込み前後での各メモリセルのしきい値電圧の変化分 V_{th} のバラツキが抑制されると、しきい値電圧の変化分 V_{th} を従来よりも小さく設定できる。つまり、従来よりも低電圧で動作可能な EP-ROM、 E^2P -ROM などが得られる。

【 0 0 9 1 】

なお、絶縁膜上に配置される金属粒子数を精密にコントロールするために、上述のように、2 次元結晶膜 1 0 0 をパターンニングしてもよいが、他の方法を用いることもできる。具体的には、上記実施形態 1 において、基板 1 1 として絶縁膜で被覆されたシリコン基板を用い、絶縁膜の表面のうち、プラスチャージに帯電させる面積を正六角形とすればよい。このことによって、アポフェリチン微粒子 1 5 は、正六角形に沿って高密度且つ高精度で規則的に配置される。従って、正六角形の面積の大小に応じてアポフェリチン微粒子 1 5 に内包される金属粒子 1 2 a の数を精密にコントロールすることができる。

【 0 0 9 2 】

また、上記実施形態 1 および 2 で作製された 2 次元結晶膜は、磁気ディスクの製造にも利用可能である。

【 0 0 9 3 】

具体的には、上記実施形態 1 および 2 において、磁性体粒子を内包したアポフェリチン微粒子 1 5 を用いて 2 次元結晶膜を作製する。次に、この得られた 2 次元結晶膜から、アポフェリチン微粒子 1 5 を熱処理などで除去し、内部の磁性体粒子だけを残存させることによって、記録面に磁性体粒子が高密度且つ高精度で規則的に配置された、記憶密度の高い磁気ディスクが得られる。

【 0 0 9 4 】

さらに、上記実施形態 1 および 2 で作製された 2 次元結晶膜は、ヌクレオチドセンサなどのバイオセンサの製造にも利用可能である。

【 0 0 9 5 】

具体的には、上記実施形態 1 および 2 において、金粒子を内包したアポフェリチン微粒子 1 5 を用いて 2 次元結晶膜を作製する。次に、この得られた 2 次元結晶膜から、アポフェリチン微粒子 1 5 を熱処理などで除去し、内部の金粒子だけを残存させる。この金粒子にチオール DNA を結合させることによって、チオール DNA が高密度且つ高精度に配置された、S N 比が非常に高いヌクレオチドセンサを得ることができる。

【 0 0 9 6 】

【発明の効果】

本発明によれば、ナノメートルサイズの直径を有する微粒子が、高密度且つ高精度で規則的に配置された 2 次元結晶膜が得られる。

【 0 0 9 7 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.

<120> 微粒子膜の作製方法

<130> 2033830152

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 504

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Recombinant DNA of Liver Apoferritin of Equus caballus

<400> 1

tattctactg aagtggaggc cgccgtcaac cgcttggtca acctgtacct gcgggcctcc 60
 tacacctacc tctctctggg cttctatttc gaccgcgacg atgtggctct ggagggcgta 120
 tgccacttct tccgcgagtt ggCggaggag aagCgcgagg gtgccgagcg tctcttgaag 180
 atgcaaaacc agcgcggcgg ccgcgctctc ttccaggact tgcagaagcc gtcccaggat 240
 gaatggggta caaccccaga cgccatgaaa gccgccattg tcctggagaa gagcctgaac 300
 caggcccttt tggatctgca tgccctgggt tctaggaggg cagaccccca tctctgtgac 360
 ttcttggaga gccacttcct agacgaggag gtgaaactca tcaagaagat gggcgaccat 420
 ctgaccaaca tccagaggct cgttggctcc caagctgggc tgggcgagta tctctttgaa 480
 aggtcactc tcaagcacga ctaa 504

<210> 2

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Recombinant Liver Apoferritin o
 f Equus cebellus

<400> 1

Tyr Ser Thr Glu Val Glu Ala Ala Val Asn Arg Leu Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Arg Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg

20 25 30

Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Cys His Phe Phe Arg Glu Leu Ala

35 40 45

Glu Glu Lys Arg Glu Gly Ala Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln

50 55 60

Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Leu Gln Lys Pro Ser Gln Asp

65 70 75 80

Glu Trp Gly Thr Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Ile Val Leu Glu

85 90 95

Lys Ser Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser Lys

100 105 110

Lys Ala Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Ser His Phe Leu Asp

115 120 125

Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn Ile

130 135 140

Gln Arg Leu Val Gly Ser Gln Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu

145 150 155 160

Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

165

<210> 3

<211> 504

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Recombinant DNA of Liver Apoferritin of Equus caballus

<400> 1

tattctactg aagtggaggc cgccgtcaac cgcctgggtca acctgtacct gcgggcctcc 60

tacacctacc tctctctggg cttctatttc gaccgcgacg atgtggctct ggagggcgta 120
 tgccacttct tccgcgagtt ggcgaggag aagcgcgagg gtgccgagcg tctcttgaag 180
 atgcaaaacc agcgcgggcg ccgcgctctc ttccaggact tgcagaagcc gtcccaggat 240
 gaatggggta caaccccaga cgccatgaaa gccgccattg tcctggagaa gaggctgaac 300
 caggcccttt tggatctgca tgccttggt tctaggagg cagaccccca tctctgtgac 360
 ttcttgaga gccacttct agacaggag gtgaaactca tcaagaagat gggcgaccat 420
 ctgaccaaca tccagaggct cgttggtcc caagctgggc tggcgagta tctctttgaa 480
 aggctcactc tcaagcacga ctaa 504

<210> 4

<211> 167

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Recombinant Liver Apoferritin of Equus caballus

<400> 1

Tyr Ser Thr Glu Val Glu Ala Ala Val Asn Arg Leu Val Asn Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Arg Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg

20 25 30

Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Cys His Phe Phe Arg Glu Leu Ala

35 40 45

Glu Glu Lys Arg Glu Gly Ala Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln

50 55 60

Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Leu Gln Lys Pro Ser Gln Asp

65

70

75

80

Glu Trp Gly Thr Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Ile Val Leu Glu

85

90

95

Lys Ser Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser Ala

100

105

110

Gln Ala Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Ser His Phe Leu Asp

115

120

125

Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn Ile

130

135

140

Gln Arg Leu Val Lys Ser Lys Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu

145

150

155

160

Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

165

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、実施形態 1 の 2 次元結晶膜の作製方法の概略を示す図である。

【図 2】

図 2 は、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 を模式的に表す図である。

【図 3】

図 3 (a) および図 3 (b) は、図 1 (b) に示す工程をさらに詳細に説明する断面図および上面図である。

【図 4】

図 4 は、実施形態 1 で得られる 2 次元結晶膜の電子顕微鏡写真である。

【図 5】

図 5 は、実施形態 1 で使用するアポフェリチン微粒子の構造を表す図である。

【図 6】

図 6 は、実施形態 1 で使用するアポフェリチン微粒子の構造を表す図である。

【図 7】

図 7 は、実施形態 1 で使用するアポフェリチン微粒子の構造を表す図である。

【図 8】

図 8 は、2 つのアポフェリチン微粒子の間に形成された塩橋を模式的に示す図である。

【図 9】

図 9 (a) および図 9 (b) は、図 1 (b) に示す工程をさらに詳細に説明する断面図および上面図である。

【図 10】

図 10 は、実施形態 2 で得られる 2 次元結晶膜の電子顕微鏡写真である。

【図 11】

図 11 (a) および (b) は、E P - R O M の上面図および断面図である。

【図 12】

図 12 は、従来の微粒子膜の作製方法を示す図である。

【符号の説明】

1 1、2 1 基板

1 2 中空コア

1 2 a 金属粒子

1 4 アポフェリチンタンパク質分子 (サブユニット)

1 5 アポフェリチン微粒子

1 6 液体

1 7 グルタミン酸表出部位

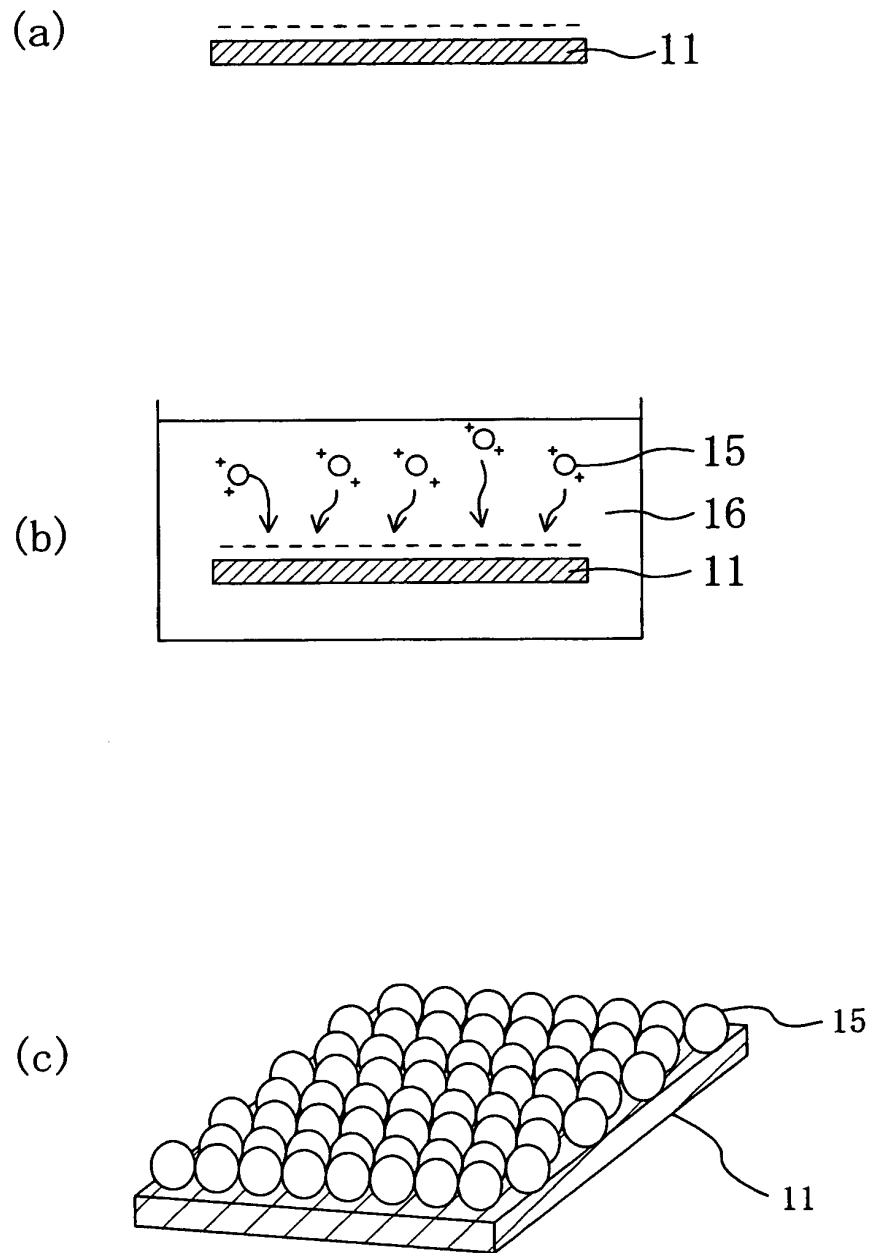
1 7 a グルタミン酸残基

2 3 シュークロース溶液

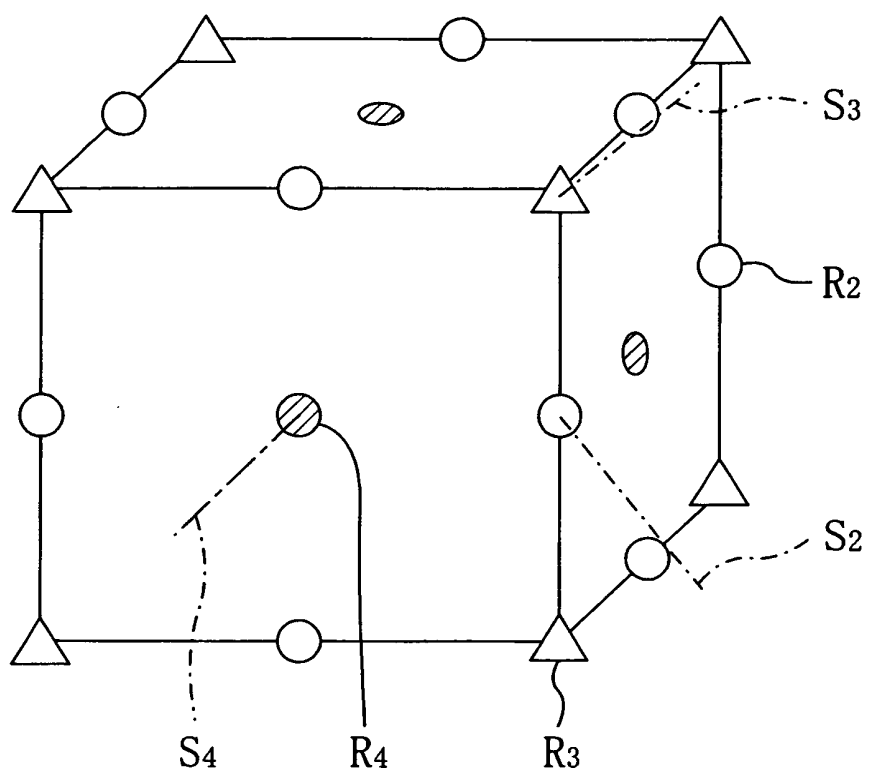
- 2 4 液体
- 2 5 シリンジ
- 2 6 アモルファス膜
- 2 7 2次元結晶膜
- 2 8 膜
- 4 5 タンパク質微粒子
- 1 0 0 2次元結晶膜

【書類名】 図面

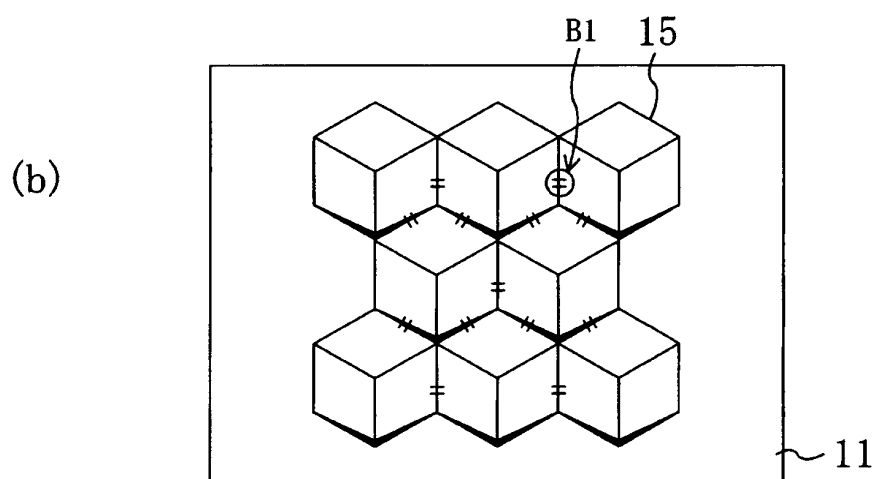
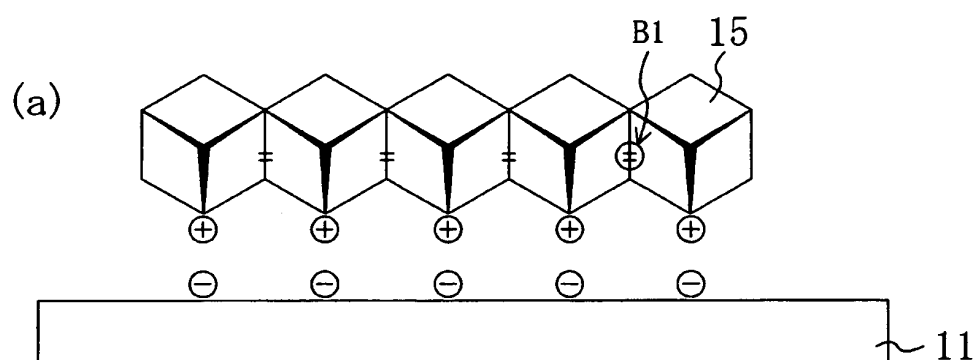
【図 1】



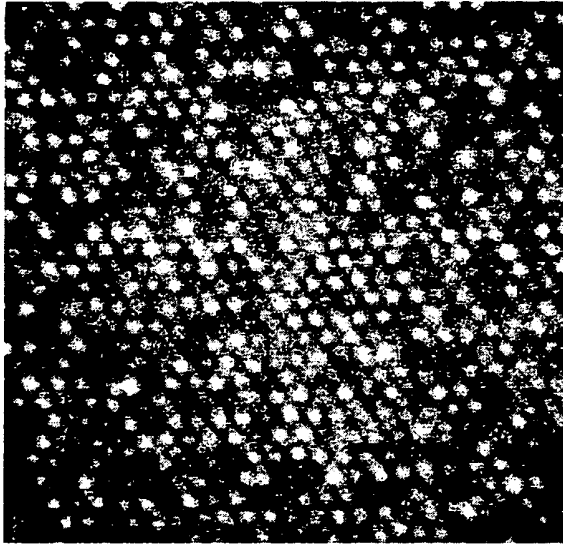
【図 2】



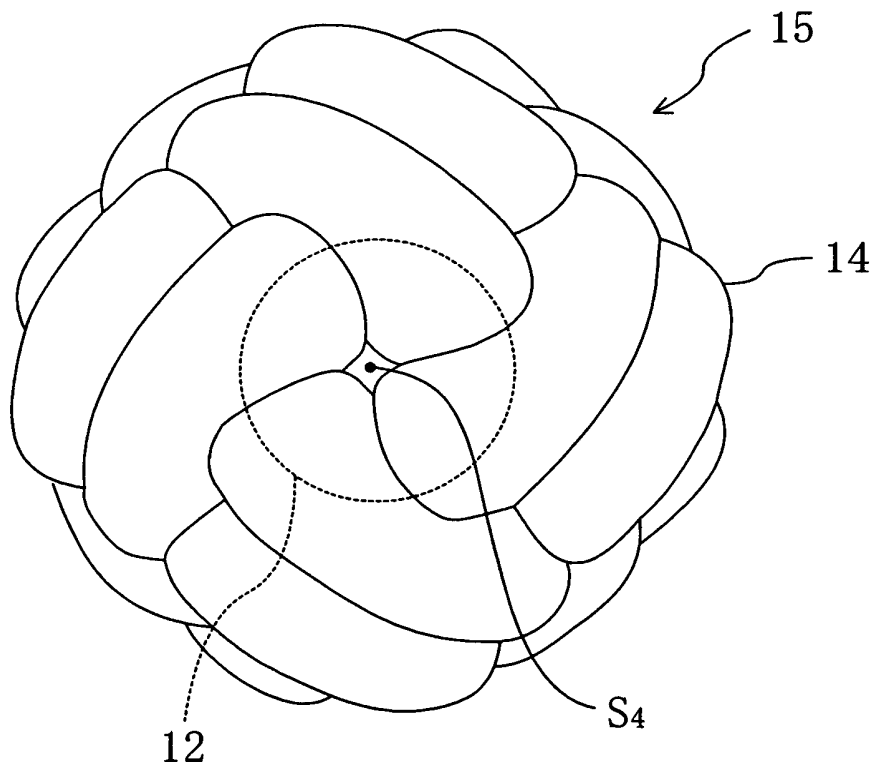
【図 3】



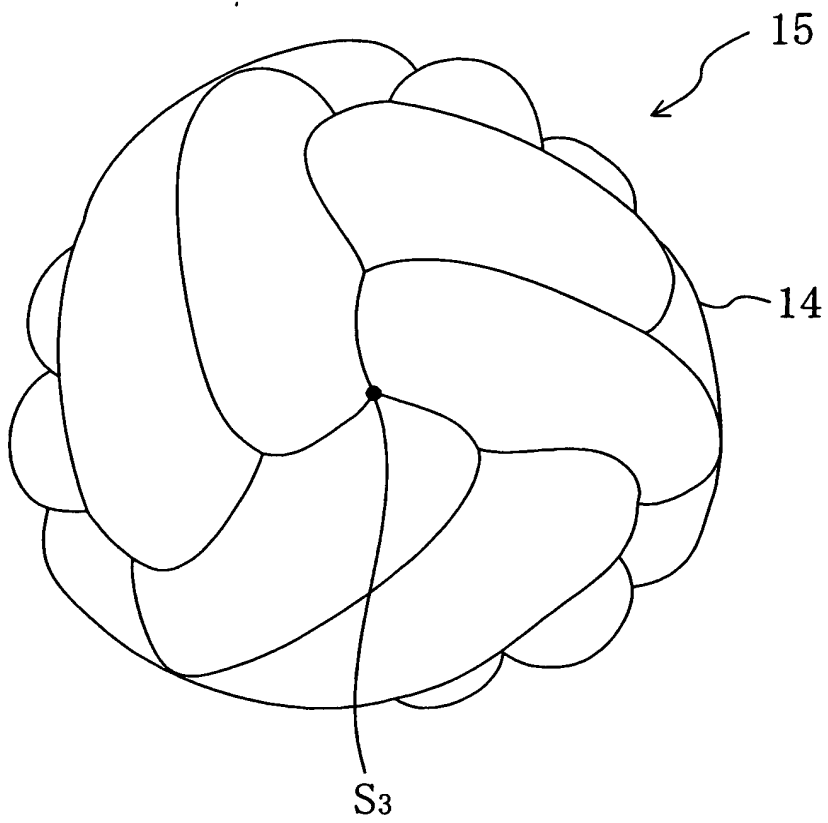
【図 4】



【図 5】

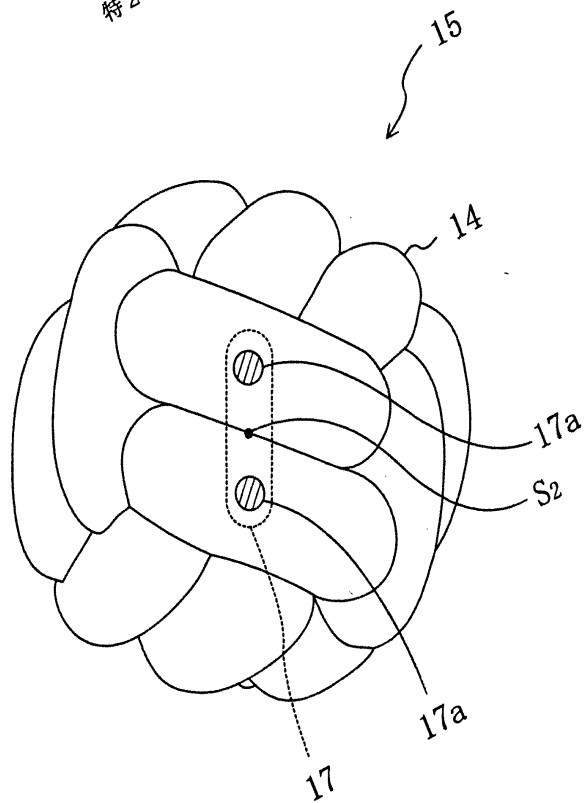


【図 6】

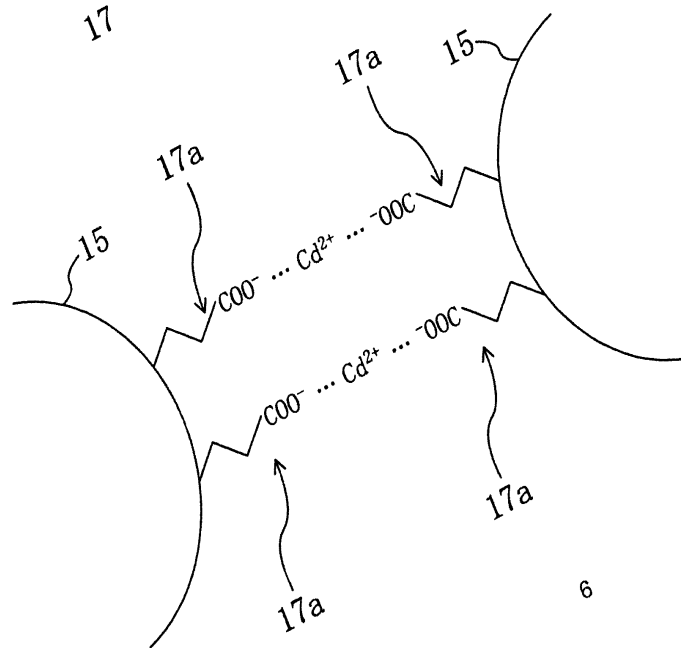


特2001-343526

【図7】

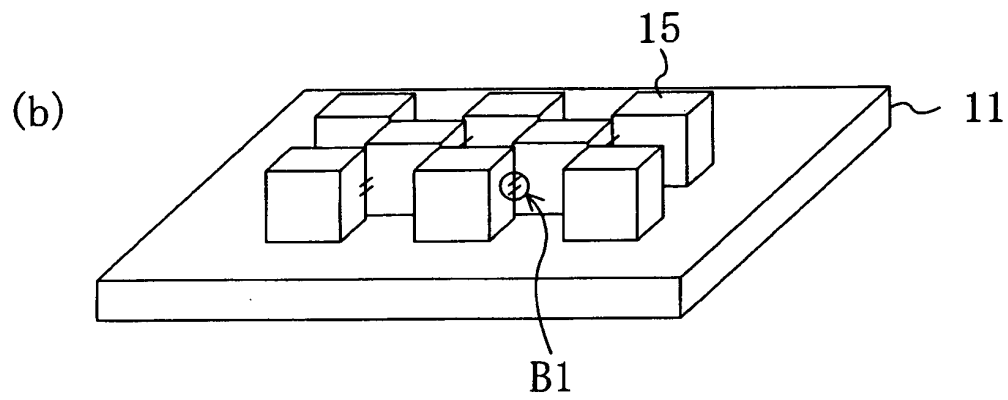
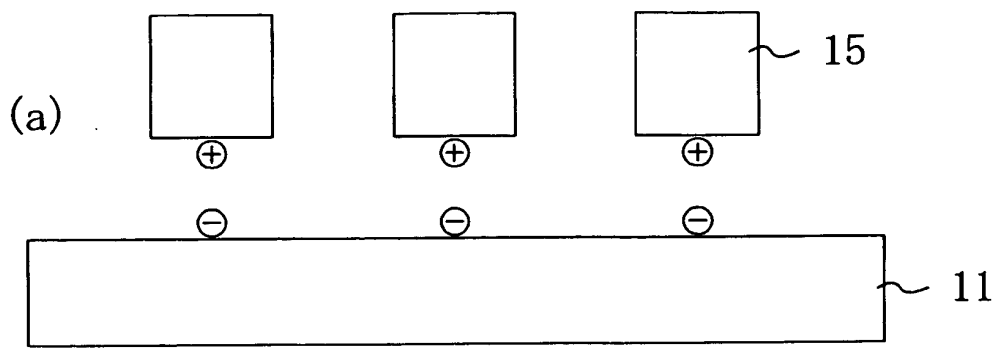


【図8】

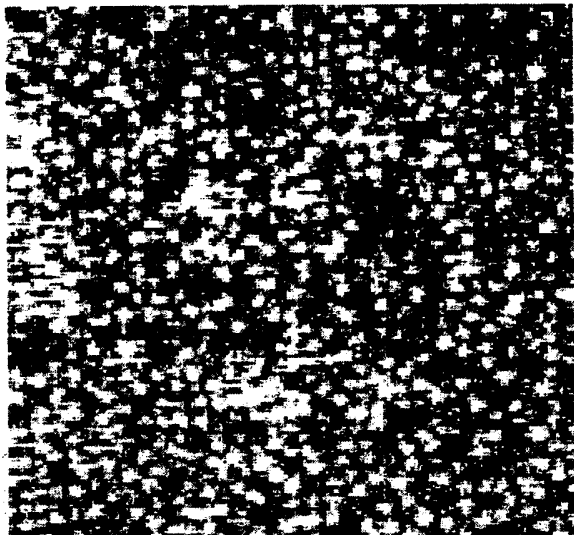


出証特2003-3023873

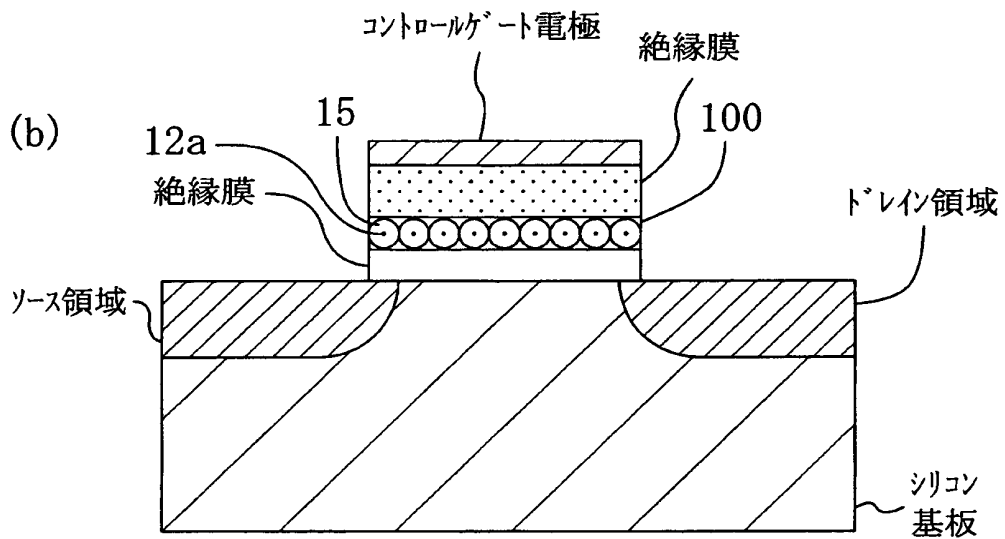
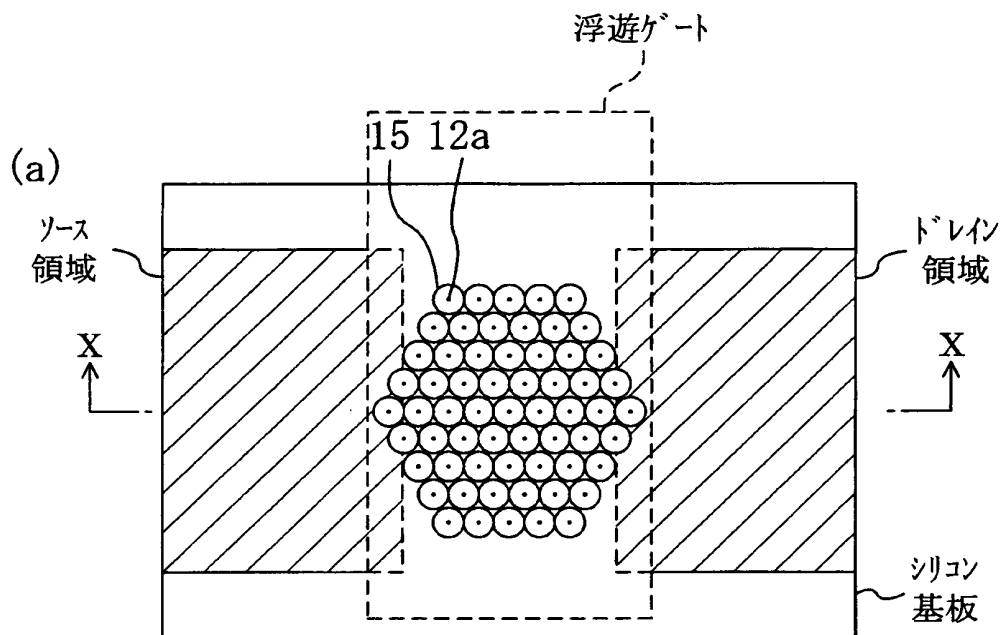
【図 9】



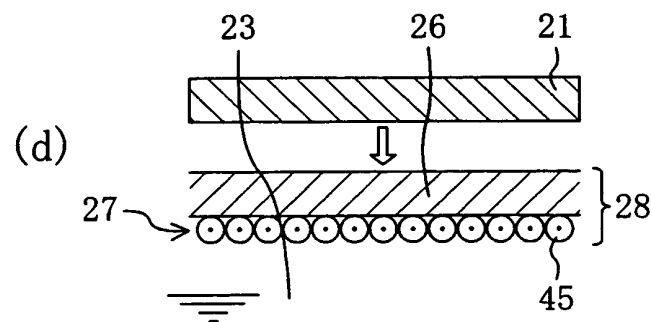
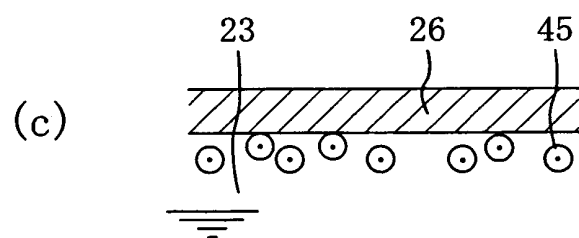
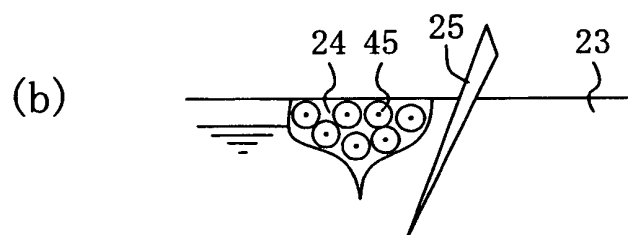
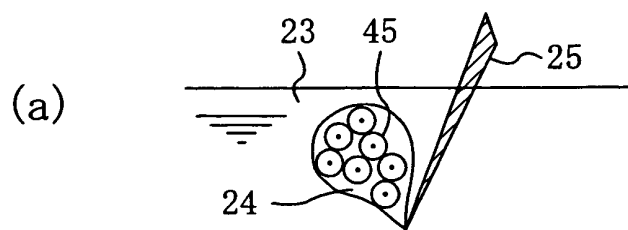
【図 1 0】



【図 1 1】



【図 1 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ナノメートルサイズの直径を有する微粒子が、高密度且つ高精度で規則的に配置された微粒子膜を提供する。

【解決手段】 アポフェリチン微粒子 1 5 は、2 回対称軸 S_2 付近の各部位 R 2 において、別のアポフェリチン微粒子 1 5 と 2 価の陽イオンを介して 2 対の塩橋を形成することができる。さらに、本実施形態で使用するアポフェリチン微粒子 1 5 は、3 回対称軸 S_3 付近の各部位 R 3 が、中性条件下ではプラスチャージに帯電するように遺伝子工学的に改変されている。このため、アポフェリチン微粒子 1 5 は、3 回対称軸 S_3 付近の部位 R 3 のいずれか 1 つで基板 1 1 の表面に静電相互作用により結合し、さらに、図 3 (a) に示すように、隣接するアポフェリチン微粒子 1 5 は、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成する。従って、3 回対称軸 S_3 を基板 1 1 表面に対してほぼ垂直に向けた状態で、部位 R 2 において互いに塩橋 B 1 を形成し、図 3 (b) に示すように、全てのアポフェリチン微粒子 1 5 が基板 1 1 の表面上に最密となるように整列する。

【選択図】 図 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005821]

1. 変更年月日	1990年 8月28日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府門真市大字門真1006番地
氏 名	松下電器産業株式会社